植 物 分 类 学 报　44 (6): 617–626(2006)　　doi:10.1360/aps06091
Acta Phytotaxonomica Sinica　　http://www.plantsystematics.com

五种紫萁属植物的核型分析

[1,2]何子灿　[1]李　勇　[1]闫　斌　[1]郑　苗　[1]张寿洲*
[1](深圳市仙湖植物园　深圳 518004)
[2](中国科学院武汉植物园　武汉 430074)

Karyotype analysis of five species in *Osmunda* (Osmundaceae)

[1,2]HE Zi-Can　[1]LI Yong　[1]YAN Bin　[1]ZHENG Miao　[1]ZHANG Shou-Zhou*
[1](*Shenzhen Fairylake Botanical Garden*, Shenzhen 518004, China)
[2](*Wuhan Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences*, Wuhan 430074, China)

Abstract　Karyomorphology of five species in *Osmunda* has been studied. These species are characterized by the complex chromocenter type of the interphase nuclei and the interstitial type of the prophase chromosomes in somatic cells. The condensation pattern of chromosomes in prophase was also observed. The karyotype formulae are as follows: *O. banksiifolia* (Presl) Kuhn, 2*n*=4sm+10st+26t+4T; *O. japonica* Thunb., 2*n*=2sm+8st+32t (2SAT)+2T; *O. vachellii* Hook., 2*n*=4sm+8st+28t+4T; *O. angustifolia* Ching ex Ching & Ch. H. Wang, 2*n*=2sm+4st+34t+4T; and *O. mildei* C. Chr., 2*n*=2sm+6st+33t+3T. The arm ratios of all the chromosomes are larger than 2, and the karyotypes of the five species are uniform and belong to Stebbins's 4A type. The relationship of karyotype and geographical distribution of three species in the subgen. *Plenasium* of *Osmunda* are discussed. The hybrid status of *O. mildei* is extrapolated from its karyotype and morphology.

Key words　pteridophyte, *Osmunda*, cytology, karyotype.

摘要　研究了5种紫萁属*Osmunda*植物的核形态学特征，其间期核属于复杂染色中心型，有丝分裂前期染色体为中间型，对有丝分裂前期染色体的动态变化过程和在细胞核内的自然排布情况进行了观察。核型公式为：粗齿紫萁*O. banksiifolia* (Presl) Kuhn, 2*n*=4sm+10st+26t+4T；紫萁*O. japonica* Thunb., 2*n*=2sm+8st+32t(2SAT)+2T；华南紫萁*O. vachellii* Hook., 2*n*=4sm+8st+28t+4T；狭叶紫萁*O. angustifolia* Ching ex Ching & Ch. H. Wang, 2*n*=2sm+4st+34t+4T；粤紫萁*O. mildei* C. Chr., 2*n*=2sm+6st+33t+3T。所有染色体臂比均大于2，核型类型均为4A，后3种染色体为首次报道，且对5种紫萁属植物的核型变异及演化关系进行了讨论，推测*Plenasium*亚属3种紫萁属植物中粗齿紫萁核型类型最原始，狭叶紫萁最进化，其地理分布与核型不对称性有关联，粤紫萁可能为一自然种间杂种。

关键词　蕨类植物；紫萁属；细胞学；染色体核型

紫萁属*Osmunda* L.隶属于蕨纲Filicopsida薄囊蕨亚纲Leptosporangiatidae真蕨目Eufilicalis紫萁科Osmundaceae(Wagner，1969)，为陆生多年生中型草本植物，全世界有15种，分布于欧、亚、北美三洲的温带和热带地区，我国分布有8种，位于南亚热带的深圳分布有5种，分别是粗齿紫萁*O. banksiifolia* (Presl) Kuhn、华南紫萁*O. vachellii* Hook.、狭叶紫萁*O. angustifolia* Ching ex Ching & Ch. H. Wang、紫萁*O. japonica* Thunb.和粤紫萁

2006-06-06 收稿, 2006-10-11 收修改稿。
基金项目：深圳市城市管理局资助项目(Supported by Urban Management Department of Shenzhen Municipal People's Government)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: shouzhouz@yahoo.com.cn; Tel.: 0755-25732477; Fax: 0755-25732674)。

O. mildei C. Chr.。

紫萁科植物在形态学上介于厚囊蕨类和薄囊蕨类之间，在蕨类植物系统演化中具有重要研究价值。已有大量的从形态、解剖、细胞、分子、化学分类、化石以及植物地理分布等方面研究紫萁属植物类群间系统发育和演化关系的报道(Tatuno & Yoshida, 1966; Miller 1967; Stein & Thompson, 1975; Stein et al., 1986; Li & Haufler, 1994; Phipps et al., 1998; Kawakami et al., 2003)，其染色体资料已应用在自然杂种和人工单倍体的鉴定、同型孢子蕨类植物高染色体基数的研究和紫萁属植物古多倍体起源探讨等方面。到目前为止，欧洲、北美和亚洲温带地区的紫萁属植物大部分均有染色体数目报道，且稳定于n=22，体细胞染色体数2n=44；对于热带和亚热带的紫萁属植物染色体则缺少研究，我国8种紫萁属植物除海南分布的华南紫萁已有染色体数目报道外(Kato & Nakato, 1999)，其余种类均未见染色体方面的报道。深圳地处南亚热带海洋气候区，蕨类植物区系成分以热带亚洲成分和东亚成分为主，是亚洲热带蕨类和东亚蕨类分布区的一个组成部分，有较明显的热带性质(董仕勇等, 2005)。因此，研究深圳地区的5种紫萁属植物核型特征，从细胞分类学角度探讨紫萁属植物的系统演化、地理分布、生物系统学等方面具有特殊的重要意义，也是本文目的所在。

1 材料和方法

材料来源见表1，凭证标本存放于深圳市仙湖植物园(SBG)标本室。

取生长旺盛的幼嫩根尖用0.1%秋水仙碱在4 ℃冰箱预处理4 h，用卡诺固定液(无水乙醇:冰醋酸=3:1)在4 ℃冰箱固定4–12 h，用1:1的浓盐酸和无水乙醇解离6 min，最后用卡宝品红染色及常规压片。部分预处理后的根尖材料采用2.5%的纤维素酶+果胶酶溶液酶解4 h、经低渗后火焰干燥制片, Gimsa染色, Zeiss显微镜观察。间期核和前期染色体的分类按Tanaka(1971，1977)的标准，核型分析按李懋学和陈瑞阳(1985)的标准，核型类型按Stebbins(1971)标准划分，核型不对称系数(As.K)按Arano(1963)的计算方法。

表**1** 材料来源

Table 1 Origin of materials studied

分类群 Taxon	采集地 Locality	凭证标本[1] Voucher[1]
粗齿紫萁 *Osmunda banksiifolia* (Presl) Kuhn	深圳梧桐山 Wutongshan, Shenzhen	陈珍传，闫斌 (Z. C. Chen & B. Yan) 011815
华南紫萁 *O. vachellii* Hook.	深圳梧桐山 Wutongshan, Shenzhen	陈珍传，闫斌 (Z. C. Chen & B. Yan) 011819
狭叶紫萁 *O. angustifolia* Ching ex Ching & Ch. H. Wang	深圳梅沙尖 Meishajian, Shenzhen	闫斌，王国栋 (B. Yan & G. D. Wang) 050012
紫萁 *O. japonica* Thunb.	深圳梧桐山 Wutongshan, Shenzhen	陈珍传，闫斌 (Z. C. Chen & B. Yan) 010905
粤紫萁 *O. mildei* C. Chr.	深圳田心山 Tianxinshan, Shenzhen	陈珍传，闫斌 (Z. C. Chen & B. Yan) 0383

1) 凭证标本存于深圳市仙湖植物园标本室(SBG)。

1) Voucher specimens were kept in the Herbarium of Shenzhen Fairylake Botanical Garden.

2 结果

五种紫萁属植物的染色体参数及核型分别见表2和表3，核型图见图24。

表2 五种紫萁属植物的染色体参数*

Table 2 The chromosome parameters of five species in *Osmunda**

	粗齿紫萁			华南紫萁			狭叶紫萁			紫萁			粤紫萁		
	O. banksiifolia			*O. vachellii*			*O. angustifolia*			*O. japonica*			*O. mildei*		
No.	RL	AR	PC	RL	AR	PC	RL	AR	PC	RL	AR	PC	RL	AR	PC
1	5.05	11.1	t	5.61	9.1	t	5.12	14.8	t	5.79	18.8	t	5.52	14.5	t
2	5.02	8.1	t	5.28	6.8	st	4.92	7.6	t	5.22	5.8	st	5.19	∞	T
3	4.97	5.9	st	5.04	7.4	t	4.86	8.2	t	5.21	12.3	t	5.10	8.4	t
4	4.83	8.6	t	5.04	10.1	t	4.84	12.9	t	4.89	15.1	t	5.08	11.0	t
5	4.76	5.5	st	4.84	6.9	st	4.71	∞	T	4.88	10.5	t	5.05	18.2	t
6	4.75	9.0	t	4.81	8.2	t	4.70	16.2	t	4.85	11.8	t	4.92	11.6	t
7	4.73	∞	T	4.65	11.6	t	4.66	10.7	t	4.83	∞	T	4.85	9.6	t
8	4.64	8.1	t	4.59	10.3	t	4.61	14.8	t	4.83	6.5	st	4.78	5.5	st
9	4.63	7.6	t	4.56	10.4	t	4.59	8.5	t	4.78	9.0	t-SAT	4.73	15.4	t
10	4.58	9.3	t	4.55	7.1	t	4.59	10.4	t	4.66	2.3	sm	4.59	2.4	sm
													4.18	1.9	
11	4.53	11.4	t	4.49	8.7	t	4.51	8.6	t	4.57	12.7	t	4.57	9.3	t
12	4.53	4.5	st	4.45	5.9	st	4.49	10.8	t	4.52	10.6	t	4.56	14.3	t
13	4.51	∞	T	4.45	∞	T	4.47	∞	T	4.45	3.5	st	4.39	7.0	st
													3.91	3.5	st
14	4.49	2.2	sm	4.38	6.7	st	4.47	14.3	t	4.41	8.4	t	4.35	12.0	t
15	4.41	8.4	t	4.32	2.2	sm	4.45	5.7	st	4.33	7.0	st	4.26	11.0	t
16	4.39	9.4	t	4.31	7.7	t	4.43	9.3	t	4.27	8.1	t	4.22	15.9	t
17	4.33	5.9	st	4.29	11.9	t	4.38	11.3	t	4.11	9.0	t	4.18	∞	T
													4.16	15.3	t
18	4.29	9.7	t	4.23	2.9	sm	4.37	2.2	sm	4.03	12.9	t	4.16	6.3	st
19	4.23	8.4	t	4.08	7.9	t	4.36	3.5	st	4.o2	9.3	t	4.13	7.2	t
20	4.22	5.0	st	4.08	8.6	t	4.30	12.3	t	3.85	8.1	t	4.12	12.7	t
21	4.13	2.7	sm	4.02	∞	T	4.20	8.3	t	3.77	11.2	t	4.01	8.1	t
22	3.97	11.3	t	3.93	7.9	t	3.97	8.3	t	3.75	13.4	t	3.68	11.6	t

* RL，相对长度; AR，臂比; PC，着丝粒位置; SAT，随体染色体。
RL, relative length; AR, arm ratio; PC, position of centromere; SAT, SAT-chromosome.

表3 五种紫萁属植物的核型比较*

Table 3 Comparison of karyotypes of five species in *Osmunda**

分类群 Taxon	核型公式 Karyotype formula K (2*n*)=44	染色体臂比 Ratio of L/S	P.C.A	核型类别 Karyotype	As.K (%)
粗齿紫萁*O. banksiifolia*	4sm+10st+26t+4T	1.272	100%	4A	87.19
华南紫萁*O. vachellii*	4sm+8st+28t+4T	1.427	100%	4A	88.64
狭叶紫萁*O. angustifolia*	2sm+4st+34t+4T	1.290	100%	4A	90.30
紫萁*O. japonica*	2sm+8st+32t(2SAT)+2T	1.544	100%	4A	89.68
粤紫萁*O. mildei*	2sm+6st+33t+3T	1.501	100%	4A	90.51

* P.C.A，臂比大于2的染色体比例; As.K(%)，核型不对称系数。
P.C.A, percentage of chromosomes with arm ratio>2; As.K(%), index of the karyotypic asymmetry.

2.1 粗齿紫萁

体细胞间期核为复杂染色中心型(complex chromocenter type)。间期核中，可见异染色质形成很多染色较深、形状不规则、分布全核的染色中央微粒(图1)，进入核分裂后可观察到细小染色微粒(深染的异染色质)呈线状排列状态，随着核物质DNA螺旋化聚缩进

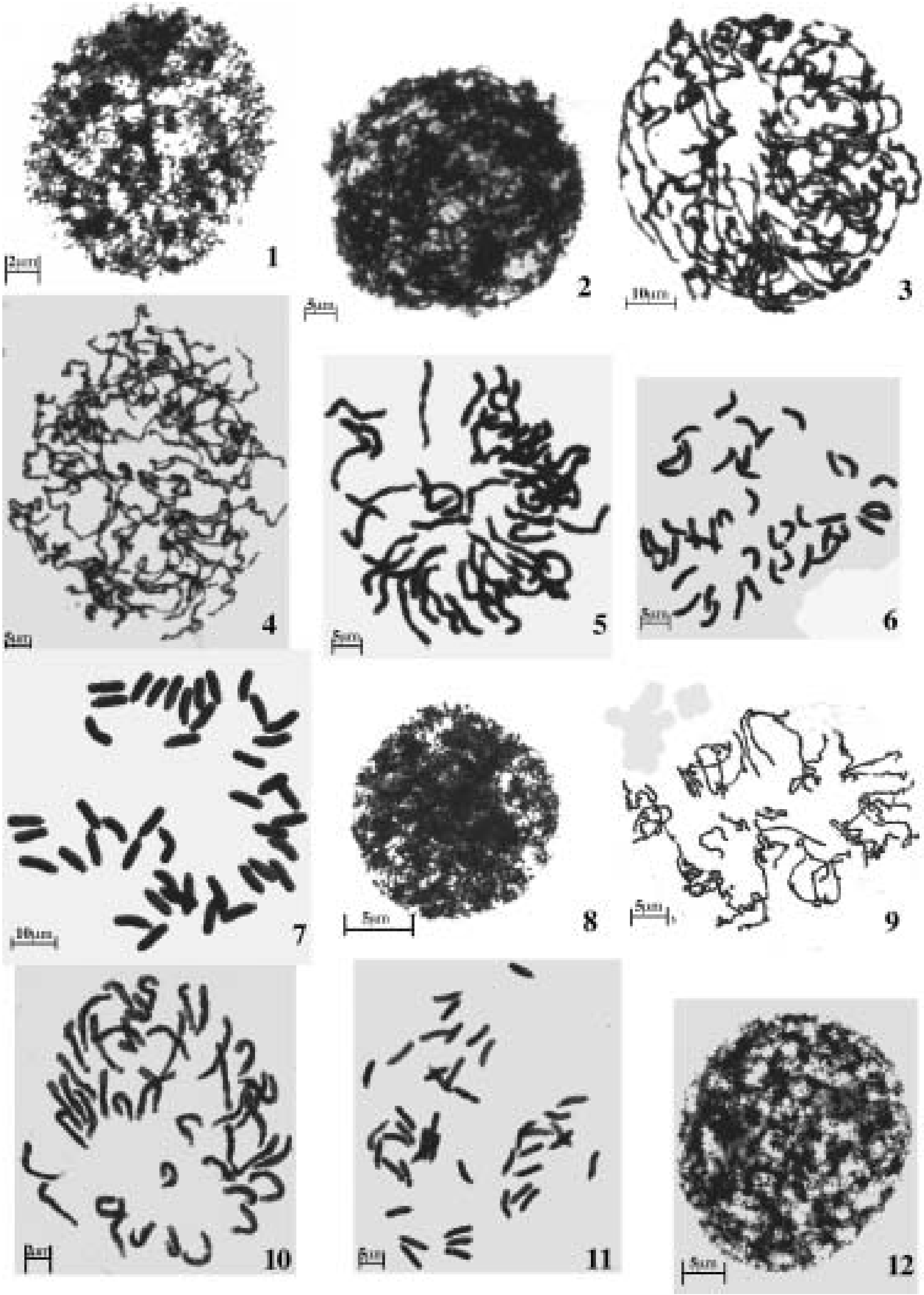

图**1–12** 紫萁属植物的根尖体细胞核形态 **1–7.** 粗齿紫萁。**1.** 间期。**2–5.** 有丝分裂前期染色体。**6.** 早中期。**7.** 中期。**8–11.** 华南紫萁。**8.** 间期。**9 , 10.** 前期。**11.** 中期。**12.** 狭叶紫萁间期。

Figs. 1–12. Interphase nuclei, mitotic prophase and metaphase chromosomes in *Osmunda*. **1–7.** *O. banksiifolia.* **1.** Interphase. **2–5.** Prophase. **6.** Early metaphase. **7.** Metaphase. **8–11.** *O. vachellii*. **8.** Interphase. **9, 10.** Prophase. **11.** Metaphase. **12.** Interphase of *O. angustifolia*.

程变得越来越清晰(图2)。由于本实验采用酶解去细胞壁、经低渗后火焰干燥制片，细胞壁和核膜均已破坏，但仍然可以判断出有丝分裂前期所有染色体都局限在核膜范围内，深染的异染色质微粒间断分布于染色体上，属于中间型(interstitial type)。清楚展现了前期细长的染色体聚缩过程中逐渐从细长而扭曲到变粗、变直、变短，从彼此缠绕到可以辨别出44条染色体的动态变化过程和在细胞核内的自然排布情况(图3–5)。早中期染色体上，44条染色体长且弯曲，部分染色体着丝点不易识别(图6)，中期染色体(图7)长度在6–9 μm左右，属较大染色体。染色体数目与前人(Haruki, 1963)报道的相同，核型公式为$2n$=4sm+10st+26t+4T，As.K=87.19%，最长染色体/最短染色体=1.272，所有染色体臂比值都大于2，核型类型为4A。

2.2　华南紫萁

体细胞间期核为复杂染色中心型(图8)，前期染色体属于中间型(图9，10)，中期染色体(图11)核型公式$2n$=4sm+8st+28t+4T。

2.3　狭叶紫萁

体细胞间期核为复杂染色中心型(图12)，前期染色体属于中间型(图13)，中期染色体(图14)核型公式$2n$=2sm+4st+34t+4T。

2.4　紫萁

体细胞间期核为复杂染色中心型(图15)，前期染色体属于中间型(图16，17)，中期染色体(图18)核型公式为$2n=2x$=2sm+8st+32t(2SAT)+2T，有一对近端染色体短臂上附有小随体，与Kawakami等(1999)报道的日本产紫萁人工单倍体植株体细胞核型$2n=x$=1sm+4st+17t基本一致。

2.5　粤紫萁

体细胞间期核为复杂染色中心型(图19)，前期染色体属于中间型(图20–22)，中期染色体(图23)核型$2n$=2sm+6st+33t+3T，利用染色体长度和臂比值对该种进行核型分析时发现，44条染色体臂比都大于2，有34个染色体都是端部着丝点染色体，而且大部分染色体长度很相近，但是部分染色体开展人为的同源染色体配对很牵强，如图24E粤紫萁的核型图中排序为第2的两个T型染色体长度不同，第10对sm染色体明显臂比不等，一个臂比为2.4，另一个为1.9；第13对st染色体明显臂比不等，一个臂比为3.5，另一个是7.0；第17号一个为T染色体,另一个是臂比为15.3的t型染色体；反映了粤紫萁在染色体形态结构方面具有一定的杂合性。

3　讨论

根据5种紫萁属植物的核型分析结果，总结如下：

3.1　五种紫萁属植物核型具有较高的一致性

五种紫萁属植物的染色体数目均为$2n$=44，与已报道的紫萁属植物染色体数目相同，均具有相似的间期核和前期染色体类型，核型都由sm、st、t、T等4种类型染色体构成，所有染色体臂比值都大于2，44个染色体中绝大部分(30–38个)染色体臂比值大于7.0，为具端部着丝点染色体，其中有2–4个着丝点就是末端，特以T为符号标记，这种绝大部分是

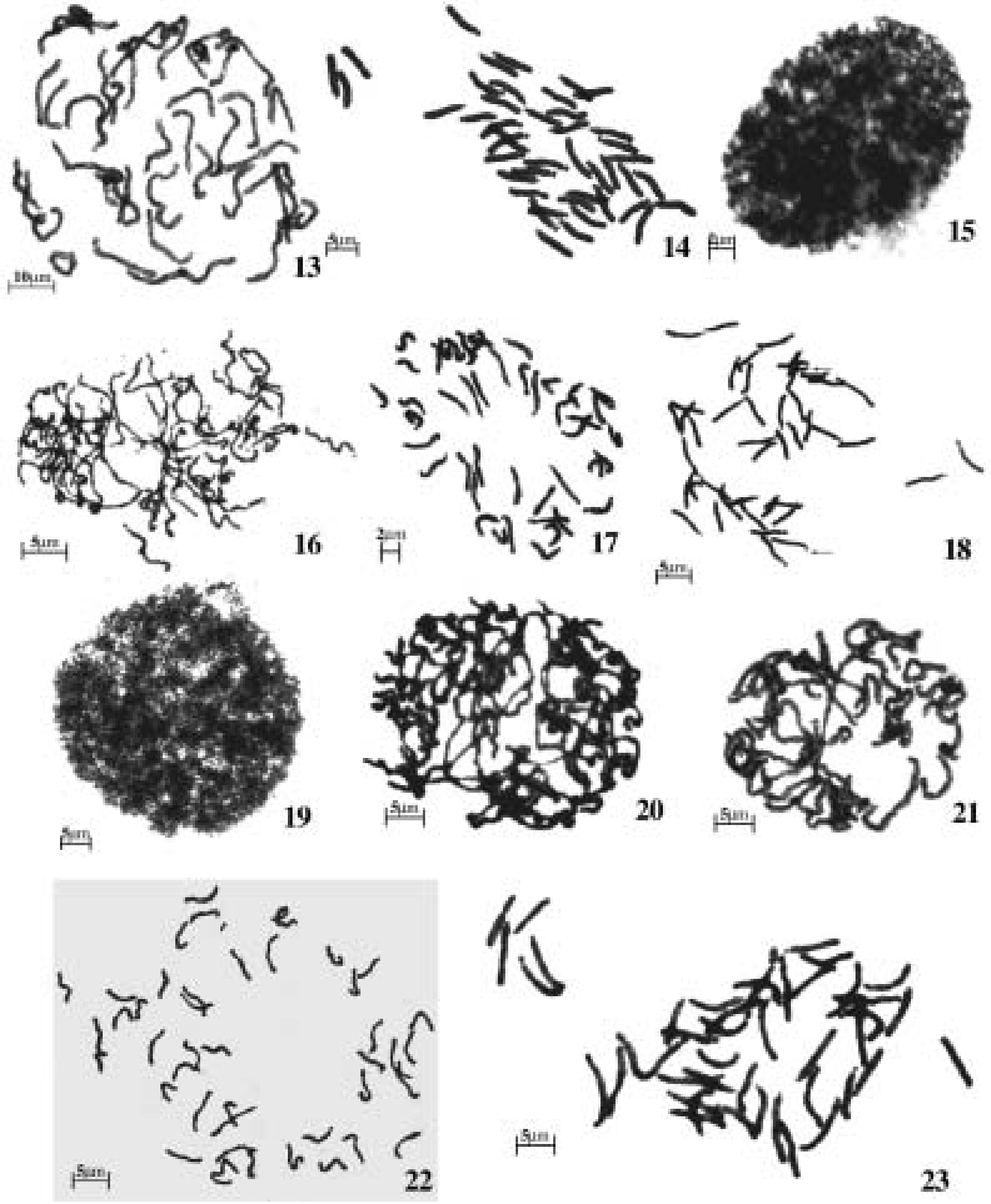

图13–23 紫萁属植物的根尖体细胞核形态 **13, 14.** 狭叶紫萁。**13.** 分裂前期。**14.** 中期。**15–18.** 紫萁。**15.** 间期。**16.** 前期。**17.** 早中期。**18.** 中期, →示随体。**19–23.** 粤紫萁。**19.** 间期。**20–22.** 前期。**23.** 中期。

Figs. 13–23. Interphase nuclei, mitotic prophase and metaphase chromosomes in *Osmunda*. **13, 14.** *O. angustifolia*. **13.** Prophase. **14.** Metaphase. **15–18.** *O. japonica*. **15.** Interphase. **16.** Prophase. **17.** Early metaphase. **18.** Metaphase, SAT (arrowhead). **19–23.** *O. mildei*. **19.** Interphase. **20–22.** Prophase. **23.** Metaphase.

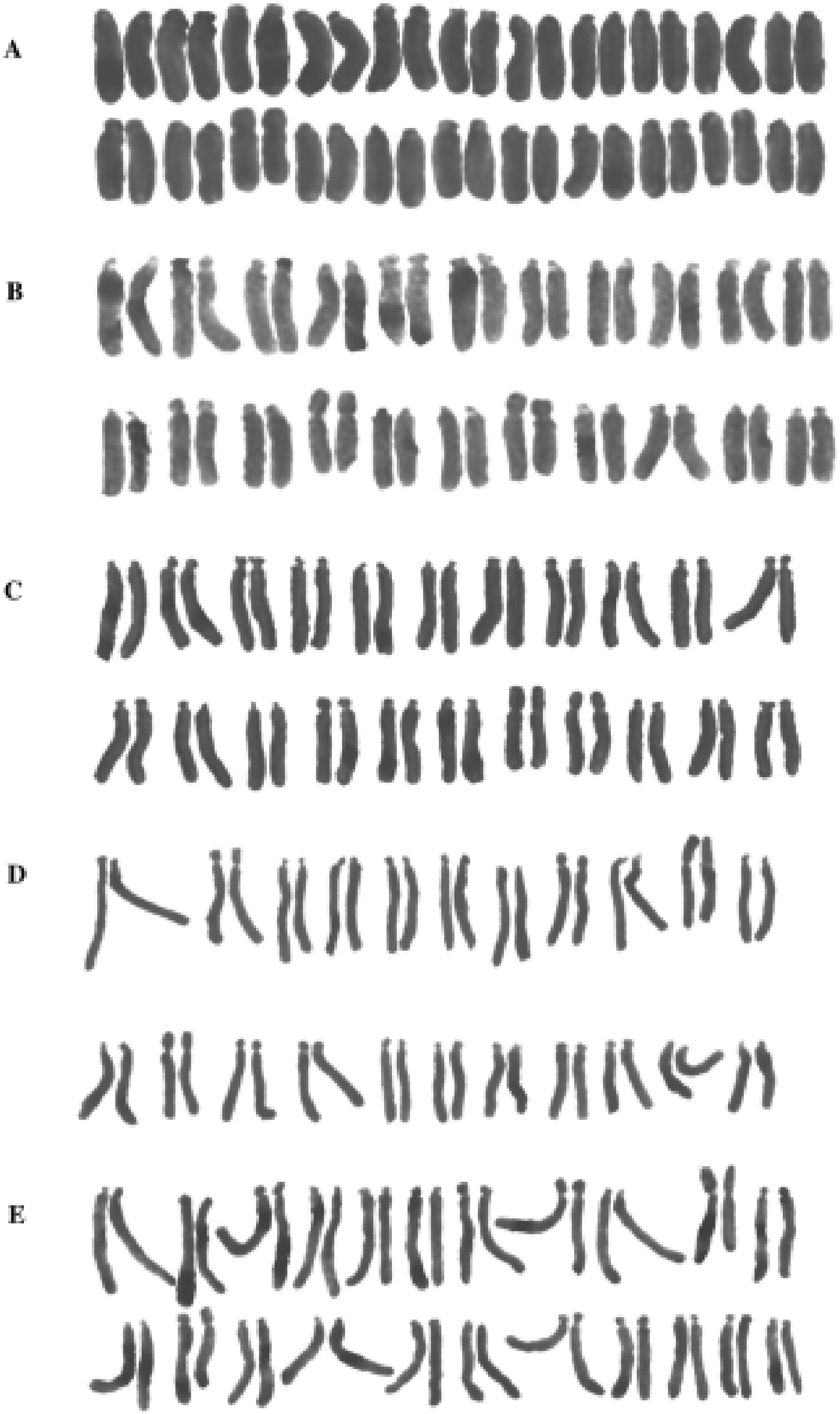

图24 五种紫萁核型 **A.** 粗齿紫萁。**B.** 华南紫萁。**C.** 狭叶紫萁。**D.** 紫萁。**E.** 粤紫萁。

Fig. 24. Karyotypes of somatic chromosomes of five species in *Osmunda*. **A,** *O. banksiifolia*. **B,** *O. vachellii*. **C,** *O. angustifolia*. **D,** *O. japonica*. **E,** *O. mildei*.

具端部着丝点染色体(terminal)的特征,反映紫萁属是较为特化的类群；5种紫萁属植物的染色体长度相近，最长染色体/最短染色体在1.5左右，核型类型均属于Stebbins的4A型，都有较高的核型不对称系数(87%–90%)。综上所述，紫萁属植物核型具有一定的一致性。表明紫萁属是一个自然的类群。

3.2 五种紫萁属植物核型具有一定的相异性

对五种紫萁属植物核型的比较发现，在sm、st和t染色体的增减、核型不对称程度、最大染色体长度/最小染色体长度和核型构成上仍然具有一定的差异，而这些差异变化在属下具有一定的分类学意义。紫萁属被分为3个亚属：subgen. *Osmunda*、subgen. *Osmundastrum*、 subgen. *Plenasium*，粤紫萁和紫萁划分在*Osmunda*亚属，粗齿紫萁、华南紫萁和狭叶紫萁属于*Plenasium*亚属(Hewitson, 1962，秦仁昌等, 1959)。*Plenasium*亚属的3个物种的核型特征主要表现在：(1)它们都有一个臂比值平均为2.2的sm染色体和4个T染色体的稳定结构特征；(2)按粗齿紫萁→华南紫萁→狭叶紫萁的顺序，它们还有分布中心区逐渐南移和分布区范围逐渐缩小的地理分布特点，并与st染色体数目逐渐减少、t染色体逐渐增加、核型不对称系数也逐渐增加的核型变化特点相对应；(3)粗齿紫萁的另一个sm染色体臂比为2.7，华南紫萁另一个sm染色体臂比是3.0，已接近临界点，狭叶紫萁虽然只有一对臂比值平均为2.2的sm染色体,但有一对st染色体臂比为3.5，猜想可能是由一个sm演化而来，也有可能一对sm染色体的结构变异涉及*Plenasium*亚属的染色体演化; (4)粗齿紫萁和华南紫萁为广布种，它们的核型组成极为相似，粗齿紫萁4sm+10st+26t+4T，仅比华南紫萁4sm+8st+28t+4T多一对st染色体和相应少一对t染色体。狭叶紫萁是我国热带和亚热带局部地区的特有种，分布范围较窄，与同亚属其他两种相比， 38个染色体属于端部着丝点染色体，按核型不对称系数较高的一般较为进化的原则，发现*Plenasium*亚属3种植物随着分布地区南移以及分布地域的缩小，核型呈现不对称系数增高的特点。深圳的3个物种中粗齿紫萁较原始，狭叶紫萁较进化。*Osmunda*亚属的粤紫萁和紫萁在核型结构上相差很小，前者为2sm+6st+33t+3T，后者2sm+8st+32t(2SAT)+4T，但粤紫萁在核型分析时不能较好进行人为的同源染色体配对(表2；图3)，具有明显的杂合性。

3.3 关于粤紫萁的分类地位问题

核型分析发现粤紫萁在染色体形态结构方面具有一定的杂合性，人为同源染色体配对较困难。检查其孢子母细胞减数分裂中期I染色体发现仅形成44条单价体，没有发生同源染色体配对，形成的孢子基本没有萌发力(何子灿，张寿洲，2005)，初步判断其具有明显的种间杂种细胞学特征。由于在孢子母细胞中没有同源染色体联会现象，推测两个亲本亲缘关系较远(另文发表)。

比较5种植物叶形态特征(图25)，紫萁叶二型，不育叶为奇数二回羽状，羽片卵状长圆形，不以关节着生于叶轴，孢子囊着生于孢子叶。粗齿紫萁、华南紫萁和狭叶紫萁叶单型，均为奇数一回羽状，孢子囊着生于部分羽片上。粗齿紫萁一回羽状叶羽片边缘锯齿状，华南紫萁羽片全缘，狭叶紫萁羽片边缘有疏而小的锯齿，都以关节着生于叶轴；粤紫萁叶的形态与紫萁的奇数二回羽状不育叶相近，但它有部分叶顶生小羽片长达4–5 cm (图25)，羽片边缘的锯齿由浅裂逐渐加深而至形成小羽片，上部的小羽片基部合生于羽轴，呈密接覆瓦状排列或间有小羽片融合在一起的现象，其特征在奇数二回羽状至奇数

一回羽状之间，同时，粤紫萁的生殖叶与*Plenasium*亚属叶片相似，均为单型，孢子囊着生于部分羽片上，与紫萁有专门的孢子叶相区别，总之粤紫萁的叶形态特征介于紫萁和*Plenasium*亚属叶类型之间，进一步通过*Plenasium*亚属3种植物叶片有无锯齿和锯齿类型的比较，其形态特征拟似紫萁和狭叶紫萁之间的过渡状态。

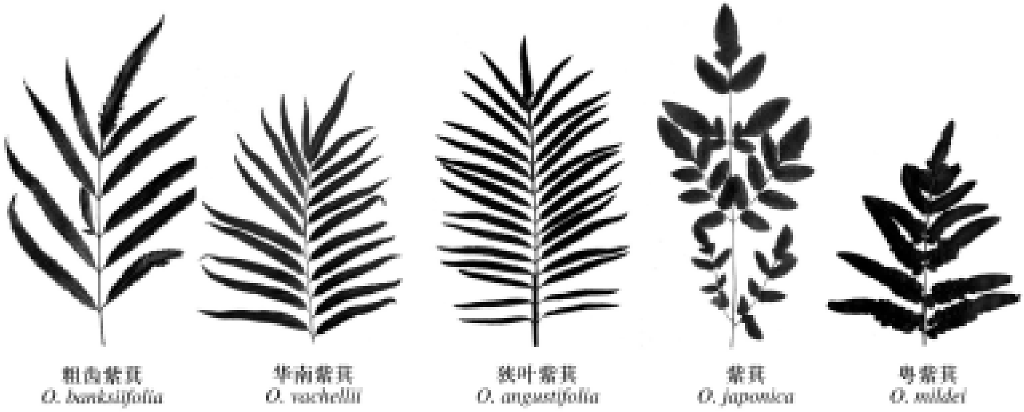

图**25**　五种紫萁叶的形态比较

Fig. 25.　Morphology of the sterile fronds in five species of *Osmunda*.

从核型特征来看，粤紫萁的构型中sm、st、t和T染色体的数目也与这两种的综合平均类型较吻合。初步判断粤紫萁很可能是紫萁和狭叶紫萁的种间杂种。

紫萁属植物在自然界存在自然种间杂种现象。Tryon(1940)发现北美的一种紫萁减数分裂中期I未见同源染色体配对，推测是一个杂种，命名为*O.* ×*ruggii* Tryon，并通过形态学和同工酶等综合分析，确定其双亲是*O. claytoniana* L.和*O. regalis* L.(Wagner, 1974; Wagner et al., 1978; Li & Haufler, 1994)。Tatuno和Yochida(1966)对3种日本产紫萁属植物紫萁、*O. lancea* Thunb. ex A. Murray及其变种*O. lancea* var. *latipinnula* Tagawa核形态学比较，通过*O. lancea* var. *latipinnula* 3对不对等的染色体参数分析，认为它是*O. lancea*和紫萁的自然杂种。这些实例反映了紫萁属存在自然的种间杂交现象,也表明了紫萁具有正常的有性繁殖能力和自然杂交的能力。

紫萁为亚洲暖温带和亚热带广布种。在我国最南可达广东、广西。其分布范围与粗齿紫萁、华南紫萁有大面积的重叠区，狭叶紫萁为中国特有种，华南为其分布区的最北缘，也就是说狭叶紫萁与紫萁在华南有分布重叠，这种分布格局与粤紫萁的狭域分布相吻合。

参 考 文 献

Arano H. 1963. Cytological studies in subfamily Carduoideae (Compositae) of Japan, IX. The karyotype analysis and phylogenetic considerations on *Pertya* and *Ainsliaea*. Botanical Magazine, Tokyo 76: 32–39.

Ching R-C (秦仁昌), Fu S-H (傅书遐), Wang C-H (王铸豪), Shing G-H (邢公侠). 1959. *Osmunda*. In: Flora Reipublicae Popularis Sinicae (中国植物志). Beijing: Science Press. 2: 78–87.

Dong S-Y (董仕勇), Chen Z-C (陈珍传), Zhang X-C (张宪春). 2005. Fern flora of Mt. Wutongshan, Shenzhen, China. Journal of Tropical and Subtropical Botany (热带亚热带植物学报) 13: 358–362.

Haruki H. 1963. Chromosome numbers in Japanese *Osmunda*. The Journal of Japanese Botany 38: 332–333.

He Z-C (何子灿), Zhang S-Z (张寿洲). 2005. Behavioral particularity on meiosis of *Osmunda mildei* C. Chr. Fairylake (仙湖) (12): 15–17.

Hewitson W H.1962. Comparative morphology of the Osmundaceae. Annals of the Missouri Botanical Garden 49: 57–93.

Kato M, Nakato N. 1999. A cytotaxonomic study of Hainan (S. China) pteridophytes, with notes on polyploidy and apogamy of Chinese species. In: Zhang X C, Shing K H eds. Ching Memorial Volume. Beijing: China Forestry Publishing House. 1–19.

Kawakami S M, Kawakami S, Kondo K, Kato J, Ito M. 2003. Sporogenesis in haploid sporophytes of *Osmunda japonica* (Osmundaceae). International Journal of Plant Sciences 164: 527–534.

Kawakami S M, Kondo K, Kawakami S. 1999. Analysis of nucleolar organizer constitution by fluorescent *in situ* hybridization (FISH) in diploid and artificially produced haploid sporophytes of the fern *Osmunda japonica* (Osmundaceae). Plant Systematics and Evolution 216: 325–331.

Li M-X (李懋学), Chen R-Y (陈瑞阳). 1985. A suggestion on the standardization of karyotype analysis in plants. Journal of Wuhan Botanical Research (武汉植物学研究) 3: 297–302.

Li J W, Haufler C H. 1994. Phylogeny, biogeography and population biology of *Osmunda* species: insights from isozymes. American Fern Journal 84 (4): 105–114.

Miller C N. 1967. Evolution of the fern genus *Osmunda*. Contributions from the Museum of Paleontology. Ann Arbor: University of Michigan Press. 21: 139–203.

Phipps C J, Taylor T N, Taylor E L, Cunéo N R, Boucher L D, Yao X. 1998. *Osmunda* (Osmundaceae) from the Triassic of Antarctica: an example of evolutionary stasis. American Journal of Botany 85: 888–895.

Stebbins G-L. 1971. Chromosomal Evolution in Higher Plants. London: Edward Arnold. 85–104.

Stein D B, Thompson W F. 1975. DNA hybridization and evolutionary relationships in three *Osmunda* species. Science 189: 888–890.

Stein D B, Palmer J D, Thompson W F. 1986. Structural evolution and flip-flop recombination of chloroplast DNA in the fern genus *Osmunda*. Current Genetics 10: 835–841.

Tanaka R. 1971. Types of resting nuclei in Orchidaceae. Botanical Magazine, Tokyo 84: 118–122.

Tanaka R. 1977. Recent karyotype studies. In: Ogawa K et al. eds. Plant Cytology. Tokyo: Asakura Shoten. 293–326.

Tatuno S, Yoshida H. 1966. Karyologische Untersuchungen über Osmundaceae I. Chromosomen der Gattung *osmunda* aus Japan. Botanical Magazine, Tokyo 79: 244–252.

Tryon R M Jr. 1940. An *Osmunda* hybrid. American Fern Journal 30: 65–68.

Wagner F S. 1974. A problematic royal fern hybrid, *Osmunda* ×*ruggii*. American Journal of Botany 61 (Suppl. 5): 39.

Wagner W H Jr, Wagner F S, Milier C N Jr, Wagner D H. 1978. New observations on the royal fern hybrid *Osmunda* ×*ruggii*. Rhodora 80: 92–106.